α-亚麻酸对干旱胁迫下水稻种子萌发的影响研究[1]

李 东， 甄春燕， 陈德富， 陈喜文*

（南开大学生命科学学院，天津 300071）

摘要：α-亚麻酸属ω-3系统的多不饱和脂肪酸，是细胞膜的重要组成部分。研究表明，干旱条件下，植物通过释放α-亚麻酸重塑细胞膜的流动性。但外源添加α-亚麻酸能否提高植物对干旱的抗性尚未可知。本研究用PEG6000模拟干旱胁迫，研究了种子萌发过程中α-亚麻酸对水稻萌发和幼苗生长过程中抗旱性的影响。结果发现，14%和16% PEG干旱条件下，水稻种子推迟萌发，幼苗的生长受到抑制。25 μmol•L^{-1}和250 μmol•L^{-1}亚麻酸可缓解干旱对水稻幼根和幼苗生长的抑制，且随着干旱程度的增加，缓解作用增强。16% PEG条件下，25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1}亚麻酸分别提高幼苗的根长34.3%和29.1%，苗长67.8%和52.0%，根重43.9%和35.2%，苗重59.1%和43.6%。α-淀粉酶活力测定发现，25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1}亚麻酸分别提高干旱条件下水稻种子α-淀粉酶活力达56.7%-70.7%和36.8%-43.8%。水稻幼根活力测定显示，25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1}亚麻酸分别提高干旱条件下幼根活力达11.4%-28.4%和5.4%-22.2%。本文还对不同干旱条件下水稻种子α-淀粉酶活性和幼根活力的变化进行了讨论。并认为，α-亚麻酸主要通过提高种子萌发过程中α-淀粉酶的活性来缓解所遭遇的干旱胁迫，而对水稻幼根活力的影响则相对有限。

关键词：水稻，α-亚麻酸，干旱，PEG，种子萌发，α-淀粉酶

中图分类号：Q945.78　　文献标识码：A　　文章编号：201709004

DOI：10.11931/guihaia.gxzw201709004

Effect of α-linolenic acid on the germination tolerance of rice seeds under drought condition

LI Dong, ZHEN Chun-Yan, CHEN De-Fu, CHEN Xi-Wen*

(*College of Life Sciences, Nankai University,* Tianjin, 300071, China)

Abstract: As a member of ω-3 polyunsaturated fatty acids, α-linolenic acid (ALA) is a component of plant cell membrane. It was shown that, under drought condition, plants release ALA to remodel the mobility of cell membrane. However, it is not known whether exogenous ALA increases the plant tolerance to the drought stress. In this research, we studied the impact of additional ALA on the drought tolerance under PEG6000 of rice seeds during the germination and seedling stage. The result showed that, under 14% and 16% PEG conditions, the germination of rice seeds was postponed and their seedlings growth were inhibited. After addition of 25 μmol•L^{-1} or 250 μmol•L^{-1} of ALA, the inhibiting effect owing to the drought condition was relieved. And the seeedlings rescued by 250 μmol•L^{-1} ALA showed stronger alleviating effect than ones rescued by 25 μmol•L^{-1} ALA. Under drought condition with 16% PEG, 25 μmol•L^{-1} and 250 μmol•L^{-1} of ALA improved the root length by 34.3% and 29.1%, respectively, while improved the seedling length by 67.8% and 52.0%; the root weight was increased by 43.9% and 35.2%, and the seedling weight was increased by 59.1% and 43.6%, respectively. Analysis of α-amylase activity

[1]收稿日期：2017-9-3　　修回日期：2017-10-24

基金项目：国家自然科学基金(31571760)。[Supported by the grant of the National Natural Science Foundation of China, 31571760]

作者简介：李东(1992-)，男，安徽亳州人，硕士研究生，主要从事水稻逆境生理研究，(E-mail) 2426170826@qq.com。

*通讯作者：陈喜文，博士，教授，主要从事植物种子生理和逆境生理的研究，(E-mail) xiwenchen@nankai.edu.cn。

in rice grains under 14% and 16% PEG condition showed, after addition of 25 μmol•L-1 and 250 μmol•L-1 ALA, the activity was increased by 56.7%-70.7% and 36.8%-43.8%, respectively. Analysis of root activity indicate that, after addition of 25 μmol•L-1 and 250 μmol•L-1 of ALA, the root activity under 14% and 16% PEG condition were increased by 11.4%-28.4% and 5.4%-22.2%, respectively. The change of α-amylase activity and root activity as PEG concentrations was also discussed. Thus, we proposed that ALA relieved the drought tolerance of rice seeds mainly by means of increasing the α-amylase activity during seed germination and seedling growth stages, while with a limited effect on root activity of rice radicle.

Key words: rice, α-linolenic acid, drought-tolerance, PEG, seed germination, α- amylase

几乎所有作物的耕作和园艺植物的培养均始于种子。人类种植的作物大多通过种子一代代地延续繁殖下去。种子萌发是指成熟的种子从吸水膨胀开始，到胚根出现结束的生理过程(Rajjou et al，2012)。种子萌发是植物生命周期中的最重要阶段，决定了植物何时能进入自然或农业生态系统(Weitbrecht et al，2011)。种子成功萌发的最关键因素是合适的环境。这个过程不是干种子独立的生物过程，而是与种子的成熟、脱水和幼苗建成相连续的过程。

生物膜是细胞与外界进行信息交流和物质交换的场所。各种生物和非生物胁迫对细胞的伤害主要起始于细胞膜。膜脂和膜蛋白是细胞膜的重要组成部分，它们的结构、组成及相互作用对细胞抵抗胁迫的能力具有重要的影响(王善广等，2000)。生物膜中约有 100 种脂质，只要其中的 1%-2%组分发生改变，就会导致细胞的存活受到影响(王善广等，2000)。膜结构的动态变化是研究植物抗逆的一个重要方面。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)由于只含有单一的不饱和脂肪酸，是研究多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids，PUFAs)功能的理想材料(Yazawa et al，2009)。利用酿酒酵母的研究发现，PUFA 在逆境条件下具有保护功能，能提高细胞应对氧化胁迫、低温、盐碱、酒精和碱性 pH 等逆境的能力(Yazawa et al，2009)。逆境条件下，膜流动性的改变为一些重要的整合膜蛋白(如光合作用相关蛋白)发挥功能提供一个稳定的环境。有证据表明，拟南芥叶绿体中油酸(18:1)含量的改变可启动应对病原体相关基因的表达(Kachroo et al，2001)。并且，油酸(18:1)含量对植物防御基因表达(Kachroo et al，2001)和种子中曲霉菌繁殖都有一定影响(Calvo et al，1999)。

α-亚麻酸(α-linolenic acid，ALA)是 ω-3 系统的 PUFAs，是细胞膜的重要组成部分。植物在应对生物与非生物胁迫时，可通过释放 α-亚麻酸，重塑膜的流动性(Iba，2002)。游离的亚麻酸是逆境条件下的信号分子，本身也是 phyto-oxylipin 生物合成的前体(Blée，2002)。过表达 ω-3 去饱和酶基因的转基因烟草，膜中 18:3 不饱和脂肪酸含量升高，对盐和干旱胁迫抗性得以提高(Zhang et al，2005)。本文研究了外源添加 α-亚麻酸对 PEG-6000 模拟干旱胁迫下水稻种子萌发和幼苗生长及相关生理特性的影响，为缓解水稻萌发期的干旱胁迫提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的材料是水稻日本晴当年的种子。种子从天津宝坻试验地收获，经过阳光充分晒干后用于实验。

1.2 干旱条件下种子的萌发

参照 Michel 提出的 PEG6000 对水势的影响(Michel & Kaufmann，1973)，采用不同浓度 PEG6000 模拟干旱处理。水稻种子用 0.1%高锰酸钾消毒 5 min 后，用蒸馏水清洗 5~6 次，然后播种于铺有滤纸的培养皿内，每皿播种 40 粒饱满的种子，分别添加 10%、12%、14%、16% (w/v)的 PEG6000 溶液 30 mL，28℃、12 h 光/12 h 暗条件下培养。每隔 2 d 分别向培养皿中补加上述相同的溶液 5 mL。以芽长超过 2 mm 计为发芽，定期统计发芽率。培养到 10 d 时从每皿中选取最先萌发

的 20 株，测定幼苗的根长、苗长、根重和苗重。

1.3 亚麻酸对 PEG 条件下种子萌发的影响

首先取 70%亚麻酸(商品原液)1 mL 用无水乙醇溶解，边加水边搅拌定容至 10 mL。然后将亚麻酸乳液超声震荡至溶液呈乳白色，使亚麻酸与水充分混匀，配制成 25 mmol•L^{-1} 亚麻酸母液。选取 40 粒饱满种子，培养在含 0、1、5、25、250 μmol•L^{-1} 亚麻酸的 14%和 16% PEG6000 滤纸上萌发，培养条件同上。种子的萌发和幼苗生长状况的统计也同上。

1.4 α-淀粉酶活性的测定

使用苏州科铭生物技术有限公司的淀粉酶试剂盒。其测定原理是利用 α-淀粉酶可作用于淀粉中的 α-1,4-糖苷键，生成葡萄糖、麦芽糖、糊精等还原糖，从而能使 3,5-二硝基水杨酸还原成棕红色物质，颜色的深浅可通过测定反应液吸光度来反映。选取各种条件下萌发 3 d 的种子，去掉种皮、萌发的幼根和幼苗，在研钵中充分研磨后，加入 1 mL 双蒸水，转移到离心管中。4500 rpm 离心 10 min，吸取 500 μL 上清转移至试管中，加蒸馏水定容到 10 mL，即为淀粉酶提取液。将试管于 70℃水浴 15 min，失活 β-淀粉酶。对照管、测定管分别加入 3,5-二硝基水杨酸置于 40℃恒温水浴中保温 10 min，540 nm 处读取吸光度，计算 ΔA=A 测定管-A 对照管。以每克组织每分钟催化产生 1 mg 还原糖定义为 1 个酶活力单位。α-淀粉酶活性(U/g 鲜重)=89.4×(ΔA+0.022)÷W，W 为种子鲜重。

1.5 根活力的测定

根据（Zhang et al，2015）的方法，利用无色的脂溶性光敏感复合物 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)可被细胞内呼吸作用产生的还原氢还原成红色 TTF 的反应，来检测根的活力。取亚麻酸实验中萌发 7 d 时的根 0.05 g，剪成 1 cm 左右长度片段，浸泡于 0.6% TTC(溶于 pH7.4 的磷酸缓冲液中)，30℃染色 24 h，取出，倒掉染液，用蒸馏水清洗 3 次后，用 95%乙醇于 85℃抽提 20 min，提取液于 485 nm 波长下测吸光度。

1.6 数据分析

实验重复三次，每种条件播种三皿，每皿中含有种子 40 粒。生理指标数据均通过三次独立测定而获得。利用 SPSS11.0 下使用 ANOVA-Student-Newman-Keuls 检测对数据进行显著性差异水平分析，以 95%为置信区间。相同条件下不同 PEG 或 ALA 处理条件下各组的显著性差异水平，用 a、b、c 字母或星号表示。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 PEG 对水稻种子萌发和幼苗生长的影响

为了探索不同 PEG6000 干旱条件对水稻种子萌发的影响，我们将种子播种在含 10%、12%、14%、16%、18%、20% (w/v)PEG6000 的滤纸上。结果发现，随着 PEG 浓度的提高，水稻种子的萌发均被推迟，但到第 5 d 时，各 PEG 浓度下种子均基本全部萌发(表 1)。虽然 18%、20%PEG 下，7 d 时萌发率可达 75%，但由于种子均变成黑色，幼苗生长也几乎停止(数据未列出)。因此，我们选择 14%、16% PEG6000 作为后续干旱处理的浓度。

表 1 不同 PEG 浓度下水稻种子的萌发

Table 1 Germination of rice seeds under different concentrations of PEG

PEG 浓度 PEG concentration (%)	2 d	3 d	4 d	5 d
0	91.3±0.7 a	100.0±0.0 a	100.0±0.0 a	100.0±0.0

10	18.8±1.8 b	75.0±7.1 b	98.8±1.8 b	100.0±0.0
12	12.6±3.5 c	56.3±5.3 c	92.5±3.5 c	100.0±0.0
14	6.3±1.8 d	42.5±3.5 d	88.8±5.3 c	96.0±1.8
16	0.0±0.0 e	20.0±3.5 e	82.5±7.0 d	97.5±2.5

注：发芽率的统计以芽长超过 2 mm 为标准。

Notes: Germination rate was recorded when the length of bud was longer than 2 mm.

为了进一步探索不同干旱条件对水稻早期幼苗生长的影响，我们统计了 14%、16% PEG 浓度下萌发 10 d 时的幼苗生长状况。结果发现，与对照相比，14% PEG 浓度下，幼苗的苗长、根重、苗重分别是对照的 0.65 倍，0.36 倍和 0.42 倍；16% PEG 浓度下，则分别是对照的 0.41 倍，0.28 倍和 0.29 倍(表 2)。即，随着干旱程度的增强，干旱对幼苗生长的抑制程度也增强。有趣的是 14%、16% PEG 浓度下，水稻幼苗的根长分别是对照的 1.63 倍和 1.26 倍，但冠根数目大幅减少（结果未列出）。因此，我们推测，干旱条件下，水稻幼苗可通过延长根的长度，吸收尽可能多的水分来抵抗干旱逆境。

表 2 不同 PEG 浓度下水稻种子幼苗的生长状态

Table 2 Growth status of rice seedlings under different concentrations of PEG

PEG 浓度 PEG Concentration (%)	根长 Root length (cm)	苗长 Shoot length (cm)	根鲜重 Root fresh weight (mg)	苗鲜重 Shoot fresh weight (mg)
0	3.88±0.88 b	4.23±0.56 a	191±12 a	313±23 a
14	6.31±1.55 a	2.77±0.55 b	133±6 b	91±8 b
16	4.88±1.15 b	1.72±0.33 c	69±2 c	53±4 b

注：每皿中测定最先萌发的 20 株幼苗。

Notes: Data was acquired by measuring the 20 earliest germinated seedlings at 10d in every culture plate.

2.2 亚麻酸对干旱条件下种子萌发和幼苗生长的影响

为了探索亚麻酸对干旱条件种子萌发和幼苗早期生长的影响，我们将水稻种子分别播种在添加 0、1、5、25、250 μmol•L^{-1} 亚麻酸的 14% PEG6000 和 16% PEG6000 培养皿中进行发芽。结果显示，亚麻酸对水稻种子的萌发势和萌发率均没有明显的提高作用(表 3)。

表 3 不同浓度亚麻酸对不同 PEG 条件下水稻种子萌发的影响

Table 3 Effect of different concentrations of ALA on rice germination under PEG condition

PEG 浓度 PEG concentration (%)	ALA 浓度 ALA concentration (μmol•L^{-1})	2 d	3 d	5 d	7 d
14	0	13.8±0.7	21.3±0.7	97.5±0.0	100.0±0.0
	1	12.5±1.4	23.8±2.1	96.3±2.1	97.5±1.4

	5	13.7±0.7	21.3±0.7	97.5±1.4	98.5±0.7
	25	11.3±0.7	21.3±0.7	96.3±0.7	100.0±0.0
	250	10.0±1.4	30.0±0.7	98.8±0.7	98.8±0.7
16	0	2.5±1.4	15.0±1.4	88.8±0.7	95.0±0.0
	1	3.8±0.7	10.0±0.0	78.8±0.7	92.5±1.4
	5	1.3±0.7	11.3±0.7	83.8±2.1	98.7±0.7
	25	1.3±0.7	11.3±2.1	70.0±2.8	98.8±0.7
	250	3.8±0.7	15.0±2.8	95.0±2.8	97.5±1.4

注：发芽率的统计以芽长超过 2 mm 为标准。

Notes: Germination rate was recorded when the length of bud was longer than 2mm.

根据不同浓度亚麻酸对干旱条件下幼苗生长的预实验，发现 25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1} 的亚麻酸的作用最为显著。为此，我们详细分析了 25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1} 的亚麻酸对干旱条件下幼苗生长抑制的缓解作用(图 1)。结果发现，14% PEG 条件下，25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1} 的亚麻酸对水稻幼苗的生长都有显著影响。与对照相比，苗长分别提高了 23.7%和 18.9%，根重分别提高了 47.0%和 51.0%，苗重分别提高了 35.3%和 29.7%，但根长仅稍有增长；16% PEG 条件下，随着干旱程度的增强，25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1} 的亚麻酸对幼苗生长的促进作用增强。与对照相比，幼苗的根长分别提高了 34.3%和 29.1%，苗长提高了 67.8%和 52.0%，根重分别提高了 43.9%和 35.2%，苗重分别提高了 59.1%和 43.6%。

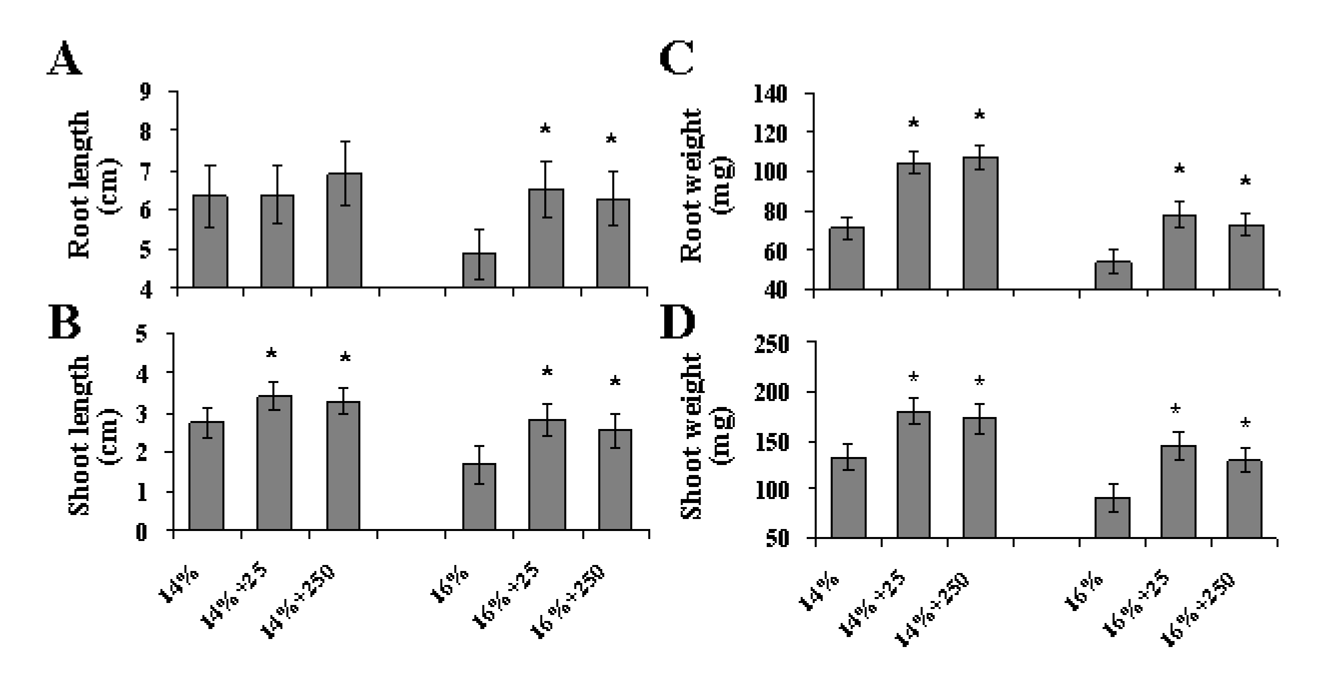


图 1 亚麻酸对干旱条件下水稻种子萌发后幼苗生长的影响

Fig.1 Effect of ALA on rice seedling growth under drought condition.

注：每皿中测定最先萌发的 20 株幼苗。

Notes: Data was acquired by measuring the 20 earliest germinated seedlings at 10d in every culture plate.

2.3 亚麻酸干旱胁迫下对水稻种子发芽过程中 α-淀粉酶活性的影响

水稻种子萌发时，α-淀粉酶活性是种子活力的一个重要指标。为了探究亚麻酸对干旱胁迫下水稻种子的萌发能力的影响，我们测定了种子萌发早期 α-淀粉酶的活性。结果发现，14% PEG 条件下，当用 25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1} 亚麻酸处理水稻种子时，α-淀粉酶活力分别比对照提高了 70.7%和 43.8%。16% PEG 处理下，当用 25 μmol•L^{-1}、250 μmol•L^{-1} 亚麻酸处理水稻种子时，α-淀粉酶活力分别比对照提高了 56.7%和 36.8%。而且，同一亚麻酸浓度下，16% PEG 条件下的 α-淀粉酶活力均比 14% PEG 条件下的活力要低 25%-31%(图 2)。

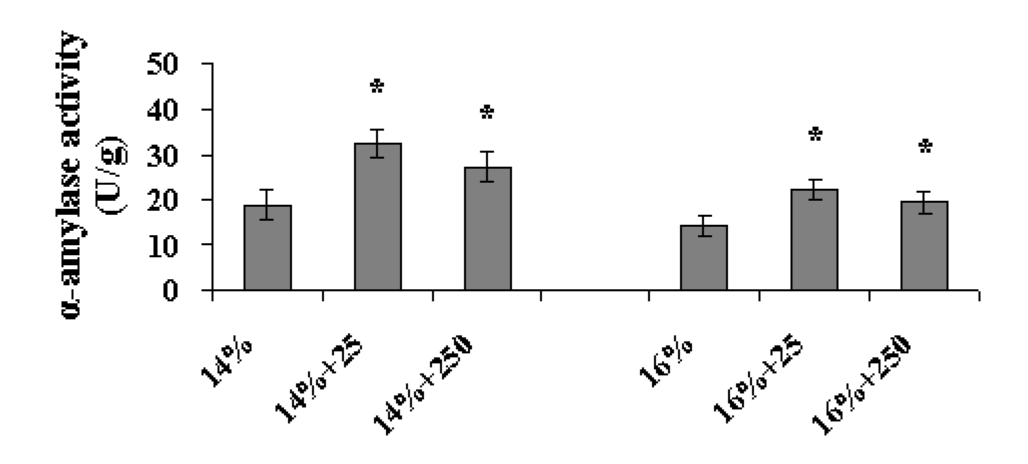


图 2 亚麻酸对干旱条件下水稻种子萌发时 α-淀粉酶活性的影响

Fig.2 Effect of ALA on α- amylase activity of germinating rice seeds under drought condition

注：酶液从萌发 3 d 的种子中提取。每克组织每分钟催化产生 1 mg 还原糖为 1 个酶活力单位。
Note: Enzyme solution was extracted from germinating seeds at 3 d. One unit of enzyme activity is defined as the enzyme catalyzing 1 mg reducing sugar in 1 minute.

2.4 干旱胁迫下亚麻酸对水稻种子发芽过程中的根活力检测

根系是植株吸收水分的主要器官，根活力的高低一定程度上反应其耐旱能力。为了探究亚麻酸对干旱胁迫下水稻幼苗抗旱能力的影响，我们测定了 14%和 16% PEG6000 条件下外加 25 μmol•L^{-1} 和 250 μmol•L^{-1} 后根活力的变化。结果发现，在 14% PEG 条件下，25 μmol•L^{-1} 和 250 μmol•L^{-1} 亚麻酸使根的活力分别比对照提高了 28.4%和 22.2%；在 16% PEG 条件下，幼根的活力分别比对照提高了 11.4%和 5.4%。而且，同一亚麻酸浓度下，16% PEG 条件下的根系活力均比 14% PEG 条件下的根系活力要高 5%-42% (图 3)。

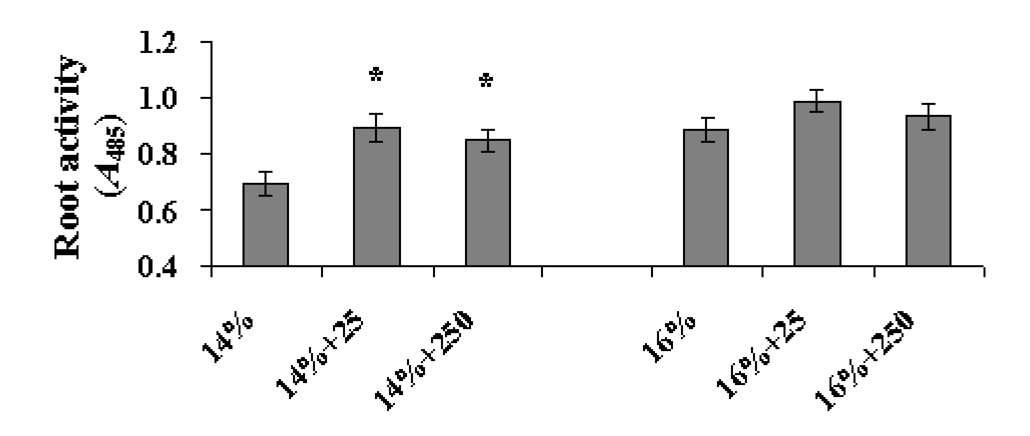


图 3 亚麻酸对干旱条件下水稻种子萌发幼苗根活力的影响

Fig.3 Effect of ALA on root activity of rice seedlings under drought condition

3 讨论

利用外源物质提高植物抵抗逆境胁迫的能力，在植物抗性研究中越来越引起关注。目前报道外源添加茉莉酸甲酯(MeJA) (董桃杏等，2007)、水杨酸(SA) (夏方山等，2014)、一氧化氮(NO)供体硝普钠(SNP) (毛亚斌和魏小红，2010)、5-氨基乙酰丙酸(5-ALA)(张春平等，2010)和甜菜碱(GB)等能提高植物的抵抗逆境的能力。这些物质大多是通过降低植物膜脂的过氧化程度，促进脯氨酸和可溶性糖的积累，提高 SOD、POD 等保护酶活性来缓解渗透胁迫(毛亚斌和魏小红，2010；夏方山等，2014)。亚麻酸是植物细胞膜脂的重要成分，外源添加是否提高植物抵抗逆境的能力尚未见报道。

本文利用 14%和 16% PEG6000 模拟干旱，证实了外源添加 α-亚麻酸对水稻种子萌发过程中的干旱胁迫具有一定的缓解作用。α-亚麻酸的浓度以 25 μmol•L^{-1} 和 250 μmol•L^{-1} 为宜，但浓度过高和过低并未对植株的生长发育产生明显的副作用，显示亚麻酸不太可能作为信号分子而发挥作用。而且，亚麻酸对干旱胁迫的缓解主要表现在对幼苗早期生长的缓解上，对种子的萌发率并没有提高(表 3)。对幼苗早期生长的影响也主要表现在苗长、苗重和根重上，对根长的作用并不显著。似乎干旱条件下幼苗通过延长根长来提高对水分吸收的能力是一种本能性的反应。

水稻属淀粉型种子，胚乳中主要的贮藏物质是淀粉。当种子萌发时，淀粉酶发挥作用，将贮藏物质水解为简单的有机物，供给种子萌发和幼苗生长发育所需要。水稻种子中存在多种淀粉酶，萌发初期主要起作用的是 α-淀粉酶。因此，α-淀粉酶活性的高低关系到种子萌发和幼苗生长的速度，是种子活力的一个重要指标。本研究中，在各种干旱条件下(14% PEG 和 16% PEG)，添加亚麻酸均能显著提高 α-淀粉酶的活性(36.8%-70.7%)(图 2)。而且，随着干旱程度的增加，α-淀粉酶活性普遍降低(图 2)。即，种子内 α-淀粉酶的活性高低与其所遭遇的干旱程度呈负相关。因此我们认为，α-淀粉酶活性高低能反映干旱条件下水稻种子的萌发能力。外源添加 α-亚麻酸提高种子萌发过程中 α-淀粉酶的活性来缓解所遭遇的干旱胁迫。

根系是植物活跃的吸收器官和代谢器官。活力的大小可作为植物根系吸收水分、养分及逆境生存能力的一个重要指标。根系的代谢越强，活力也越强。因此，根活力的高低一定程度上反应其耐旱能力。本研究中，各种干旱条件下(14% PEG 和 16% PEG)，添加亚麻酸虽在一定程度提高根的代谢活力(5.4%-28.4%)。但高浓度(16% PEG)条件下，亚麻酸对干旱条件下的根系活力的提高非常有限(5.4%-11.4%)(图 3)。而且，随着干旱程度的增加，根的代谢活力普遍增加(图 3)。因此，我们推测干旱条件下根系活力的增强也可能是植物对干旱条件的一种适应性反应，亚麻酸通过提高根系活

力来提高植物抗旱性的作用非常有限。

总之，本研究从形态和生理的角度证实，外源添加亚麻酸主要通过提高干旱胁迫下萌发水稻种子的 α-淀粉酶活性和幼苗根系活力，从而达到缓解干旱胁迫的目的。由于 α-亚麻酸是一种细胞膜脂的成分，今后的研究应集中于其对膜脂成分及膜脂过氧化程度的影响上，进一步揭示其缓解干旱胁迫的机制。

参考文献：

BLE´E, 2002. Impact of phyto-oxylipins in plant defense [J]. Trends Plant Sci, 7(7):315-321.

CALVO AM, HINZE LL, GARDNER HW, et al, 1999. Sporogenic effect of polyunsaturated fatty acids on development of Aspergillus spp [J]. Appl Environ Microbiol, 65(8):3668-3673.

DONG TX, CAI KZ, ZHANG JX, et al, 2007. The physiological roles of methyl jasmonate(MeJA) in drought resistance of rice seedlings[J]. Ecol Environ, 16(4):1261-1265. [董桃杏，蔡昆争，张景欣，等，2007．茉莉酸甲酯(MeJA)对水稻幼苗的抗旱生理效应[J]．生态环境，16(4)：1261-1265.]

KACHROO P, SHANKLIN J, SHAH J, et al, 2001. A fatty acid desaturase modulates the activation of defense signaling pathways in plants [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 98(16):9448-9453.

IBA K, 2002. Acclimative response to temperature stress in higher plants: approaches of gene engineering for temperature tolerance [J]. Annu Rev Plant Biol, 53(1):225-245.

MAO YB, WEI XH, 2010. Effects of exogenous nitric oxide on lipid peroxidation antioxidase fluorescence of Isatis indigotica leaves under drought stress[J]．Pratacultural Sci，27(6)：97-101. [毛亚斌，魏小红，2010．外源 NO 对干旱胁迫下板蓝根叶片氧化损伤的保护作用[J]．草业科学，27(6)：97－101.]

MICHEL BE, KAUFMANN MR, 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000 [J]. Plant Physiol, 51(5):914-916.

RAJJOU L, DUVAL M, GALLARDO K, et al, 2012. Seed germination and vigor [J]. Annu Rev Plant Biol, 63:507-533.

WANG SG, ZHANG HY, GUO Y, et al, 2000. Sammarize of biomembrane and fruit tree cold resistance [J]． Tianjin Agric Sci，6(1)：37-40. [王善广，张华云，郭郢，等，2000．生物膜与果树抗寒性[J]．天津农业科学，6(1)：37－40.]

WEITBRECHT K, MULLER K, LEUBNER-METZGER G, 2011. First off the mark：early seed germination [J]. J Exp Bot, 62:3289-3309.

XIA FS, MAO PS, YAN HF, et al, 2014. Effects of salicylic acid on stress resistance of seeds and seedlings[J]． Pratacultural Sci，31(07): 1367-1373. [夏方山，毛培胜，闫慧芳，等，2014．水杨酸对植物种子及幼苗抗逆性的影响[J]．草业科学，31(07)1367-1373.]

YAZAWA H, IWAHASHI H, KIMULA K, et al, 2009. Production of polyunsaturated fatty acids in yeast Saccharomyces cerevisiaeand its relation to alkaline pH tolerance [J]. Yeast, 26(3):167-184.

ZHANG CP, HE P, YU ZL, et al, 2010. Effect of exogenous Ca^{2+} and NO donor SNP on seed germination and antioxidase activities of *Perilla frutescens* seedling sunder NaCl stress [J]． Chin J Mater Med，35(23)：3114-3119. [张春平，何平，喻泽莉，等，2010．外源 Ca^{2+}及 NO 供体硝普钠(SNP)对盐胁迫下紫苏种子萌发及幼苗抗氧化酶活性的影响[J]．中国中药杂志，35(23)：3114－3119.]

ZHANG M, BARG R, YIN M, et al, 2005. Modulated fatty acid desaturation via overexpression of two distinctx-3 desaturases differentially alters tolerance to various abiotic stresses in transgenic tobacco cells and plants [J]. Plant J, 44(3):361-371.

ZHANG ZY, ZHAGN X, HU ZB, et al, 2015. Lack of K-dependent oxidative stress in cotton roots following coronatine-induced ROS accumulation [J]. Plos One, 10(5): e0126476.